



B

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re Application of :

Holger Hess-Stumpp

Serial No. : 09/961,403 ✓

Filed : September 25, 2001

For : METHOD FOR IN VITRO DIAGNOSIS OF ENDOMETRIOSIS

**SUBMISSION OF PRIORITY DOCUMENT(S)**

Commissioner for Patents  
P.O. Box 1450  
Alexandria, VA 22313-1450

Sir:

Submitted herewith is a certified copy of each of the below-identified document(s),  
benefit of priority of each of which is claimed under 35 U.S.C. § 119:

COUNTRY	APPLICATION NO.	FILING DATE
Germany	100 48 633.9	September 25, 2000

Acknowledgment of the receipt of the above document(s) is requested.

No fee is believed to be due in association with this filing, however, the Commissioner is  
hereby authorized to charge fees under 37 C.F.R. §§ 1.16 and 1.17 which may be required to  
facilitate this filing, or credit any overpayment to Deposit Account No. 13-3402.

Respectfully submitted,

Richard M. Lebovitz, Reg. No. 37,067  
Attorney/Agent for Applicants

MILLEN, WHITE, ZELANO  
& BRANIGAN, P.C.  
Arlington Courthouse Plaza I  
2200 Clarendon Blvd. Suite 1400  
Arlington, Virginia 22201  
Telephone: (703) 243-6333  
Facsimile: (703) 243-6410

Attorney Docket No.: SCH-1789

Date: February 25, 2004

# BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND



## Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung

**Aktenzeichen:** 100 48 633.9

**Anmeldetag:** 25. September 2000

**Anmelder/Inhaber:** Schering Aktiengesellschaft, 13353 Berlin/DE

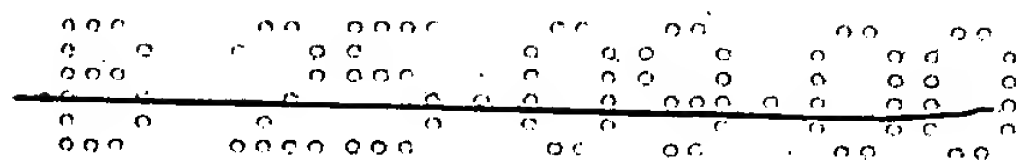
**Bezeichnung:** Methode zur in vitro Diagnostik von Endometriose

**IPC:** G 01 N, C 07 H, C 12 Q

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 6. Februar 2004  
Deutsches Patent- und Markenamt  
Der Präsident  
Im Auftrag

Dzierzon



**Belegexemplar**

Darf nicht geändert werden

3

## 5 Methode zur in vitro Diagnostik von Endometriose

Die Erfindung betrifft eine Methode zur in vitro Diagnostik von Endometriose.

Endometriose ist eine der häufigsten gynäkologischen Erkrankungen, von der schätzungsweise 5-10% aller Frauen im reproduktionsfähigen Alter betroffen sind (Sillem, M. 1998; Programmed<sup>®</sup> 23, Suppl. 1, 1-28). Sie ist gekennzeichnet durch das Vorkommen von Endometriumsgewebe außerhalb der physiologischen Schleimhautauskleidung des Uterus. Neben Schmerzen und zahlreichen anderen Symptomen sind viele Endometriosepatientinnen steril, und ein großer Teil der IVF-Patientinnen (IVF – in vitro Fertilisation) leidet an Endometriose (Adamson, G.D. 1997; Sem. Reprod. Biol. 15, 263-271). In jüngster Zeit mehren sich Publikationen, die für eine genetische Prädisposition bei der Entwicklung einer Endometriose sprechen (Kennedy, S. 1997; Sem. Reprod. Biol. 15, 309-318). So wurde der Verlust von Tumorsuppressormolekülen sowie familiäre Häufungen bei Endometriose-Patientinnen beschrieben.

Zur Zeit wird die Endometriose mit Hilfe der Laparoskopie diagnostiziert. Dies ist eine invasive Methode, die häufig zu Komplikationen führt (Chapron C. et al. 1998; Hum. Reprod. 13, 867-872; Jansen F. W. et al, 1997; Br. J. Obstet. Gynecol. 104, 595-600). Sie wird unter Narkose durchgeführt und setzt einen voll eingerichteten Operationssaal voraus.

Daher besteht ein Bedarf an neuen Diagnostikmethoden. Wünschenswert wäre eine Methode, die für die Patientinnen weniger belastend wäre und die vom behandelnden Arzt durchgeführt werden könnte.

Dieses Problem wird erfindungsgemäß gelöst durch die Identifizierung von bei der Endometriose differentiell regulierten Genen und die Bereitstellung einer Methode zur Detektion ihrer Genprodukte.

Die Erfindung betrifft eine Methode zur in vitro Diagnose von Endometriose wobei die Menge an Genprodukt von mindestens einem Gen aus der Gruppe bestehend aus Fibronectin, Insulin-like growth factor binding protein-2, Transmembrane receptor PTK7, Platelet-derived growth factor receptor alpha, Collagen type XVIII alpha 1,

5 Subtilisin-like protein (PACE4), Laminin M chain (Merosin), Elastin, Collagen type IV  
alpha 2, p27 interferon alpha-inducible gene, Reticulocalbin, Aldehyde  
Dehydrogenase 6, Gravin, Nidogen und Phospholipase C Epsilon in einer  
Patientinnenprobe bestimmt wird und mit der Menge an diesem Genprodukt in einer  
Kontrollprobe verglichen wird, wobei eine geringere Menge an diesem Genprodukt  
10 auf das Vorliegen einer Endometriose hinweist.

Die Gruppe der Gene wird in Abbildung 1 näher beschrieben. Die Expressionsstärke,  
d.h. die Menge des Genproduktes von mindestens einem der in Abbildung 1  
genannten Gene in einer Patientinnenprobe wird bestimmt und mit der aus einer  
Kontrollprobe (Frau ohne Endometriose) verglichen. Die zu vergleichenden Proben  
15 müssen beide aus der sekretorischen Phase, also aus dem Bereich Tag 15-28 nach  
der letzten Menstruation stammen. Eine verminderte Expressionsstärke von  
mindestens einem der o.g. Gene in der Patientinnenprobe deutet auf das Vorliegen  
einer Endometriose hin.

Eine Patientinnenprobe kann eine Probe vom Endometriumgewebe,  
20 Peritonealflüssigkeit, Blut, vaginales Sekret oder Urin der Patientin sein.

Ein Genprodukt ist entweder mRNA, die daraus abgeleitete cDNA, ein Polypeptid  
oder Teile eines Polypeptids. Die Aminosäuresequenzen der Polypeptide sind in  
Abbildung 2 dargestellt.

Die erfindungsgemäße Methode kann zur erstmaligen Diagnose von Endometriose  
eingesetzt werden. In diesem Fall wird die Menge des Genproduktes in der  
Patientinnenprobe mit einer Kontrollprobe von nicht erkrankten Frauen verglichen.  
Die erfindungsgemäße Methode kann auch zur Beurteilung des Verlaufs der  
Krankheit verwendet werden. So kann z.B. der Erfolg einer Therapie bestimmt  
werden. In diesem Fall wird die Patientinnenprobe mit einer älteren Probe derselben  
30 Patientin verglichen.

Das Genprodukt Polypeptid oder ein Teilstück eines Polypeptids wird durch  
Immunassays detektiert. Dazu werden spezifische Antikörper gegen eines oder  
mehrere Polypeptide ausgewählt aus der in Abbildung 2 beschriebenen Gruppe,  
hergestellt. Die Antikörper können monoklonal oder polyklonal sein. Sie können  
35 gegen jeweils das gesamte Polypeptid oder gegen Fragmente davon gerichtet sein.  
Die Gewinnung eines solchen Antikörpers erfolgt nach Standardmethoden durch

5 Immunisierung von Versuchstieren. Die Antikörper werden dann z.B. in einem ELISA (enzyme-linked-immunosorbent assay), in einem RIA (radioimmunoassay) oder in der Immunhistochemie zur Bestimmung der Menge des Genproduktes verwendet (Aoki, K. et al. 1996; Forensic Sci. Int. 80, 163-173).

10 Die Erfindung betrifft ferner die Verwendung eines erfindungsgemäßen Antikörper-Chips zur Diagnose von Endometriose. Antikörper-Chips sind miniaturisierte Träger, meist aus Glas oder Silizium, auf deren Oberfläche Antikörper bekannter Spezifität in einem geordneten Raster in hoher Dichte immobilisiert werden. Die Detektion der Protein/Protein Interaktionen kann durch Massenspektrometrie, Fluoreszenz oder surface plasmon resonance erfolgen. Es können Antikörper, welche die aus der in  
15 Abbildung 2 beschriebenen Gruppe ausgewählten Proteine spezifisch binden, auf dem Antikörper-Chip immobilisiert sein. Methoden zur Herstellung und Verwendung von Antikörper-Chips sind in Kreider BL, Med Res Rev 2000,20:212-215 beschrieben.

20 Die Genprodukte mRNA bzw. die daraus abgeleitete cDNA können durch Hybridisierung mit Oligonukleotiden, z.B. durch einen Northern blot bestimmt werden. Diese Oligonukleotide haben Sequenzen, die komplementär zu Teilsequenzen des zu detektierenden Genprodukts sind, und können z.B. mit einer chromogenen, radioaktiven oder fluoreszierenden Gruppe markiert sein. Vor der Hybridisierung kann die cDNA mit Hilfe der PCR amplifiziert werden (Sambrook, J. et al. 1989; Cold  
25 Spring Harbor Laboratory Press).

Die Genprodukte mRNA bzw. die daraus abgeleitete cDNA können auch durch quantitative PCR (polymerase chain reaction) bestimmt werden.

Die mRNA kann auch durch *in situ* Hybridisierung mit antisense-RNA bestimmt werden. Dabei kann die antisense-RNA mit Dioxigenin, <sup>32</sup>P oder <sup>33</sup>P markiert sein.  
30 Antisense Nukleinsäure ist eine DNA und/oder RNA, die komplementär zu einer mRNA ist. Sie kann die gesamte komplementäre Sequenz oder Teilsequenzen umfassen. Diese Methode ist dem Fachmann bekannt (Barlati, S. et al. 1999; Histol. Histopathol. 14, 1231-1240).

Die Hybridisierung kann auch mit Hilfe eines DNA-Chips erfolgen. Die Erfindung  
35 betrifft daher weiterhin einen DNA – Chip, auf dem mindestens ein Oligonukleotid immobilisiert ist, das der vollständigen cDNA-Sequenz oder einer Teilsequenz bzw.

5 komplementären Sequenz eines Genes ausgewählt aus der Gruppe, die in Abbildung 1 beschrieben ist, entspricht. Die Erfindung betrifft somit ferner die Verwendung eines erfindungsgemäßen DNA-Chips zur Diagnose von Endometriose.

10 DNA-Chips, auch als DNA-Mikroarrays bekannt, sind miniaturisierte Träger, meist aus Glas oder Silizium, auf deren Oberfläche DNA-Moleküle bekannter Sequenz in einem geordneten Raster in hoher Dichte immobilisiert werden. Die Oberflächen- gebundenen DNA-Moleküle werden mit komplementären, eventuell markierten Nukleinsäuren hybridisiert. Die Markierung kann ein Fluoreszenzfarbstoff sein.

Bei Oligonukleotid-Chips stellen die Oligonukleotide, die auf einem erfindungsgemäßen DNA-Chip gebunden sein können, Teilsequenzen der 15 Genprodukte (mRNA bzw. daraus abgeleitete cDNA) in der Sense- oder Antisense- Richtung dar. Es können ein oder mehrere Oligonukleotide pro Gen auf dem DNA- Chip gebunden sein. Bevorzugt sind 25 Nukleotid-lange Oligonukleotide, die aus dem nicht kodierenden Strang abgeleitet sind. Diese werden bevorzugt aus dem jeweiligen 3'untranslatierten Ende des Gens ausgewählt. Zur Detektion können 20 Oligonukleotide von einem Gen, mehreren Genen oder allen Genen ausgewählt aus der in Abbildung 1 beschriebenen Gruppe eingesetzt werden. Methoden zur Herstellung und Verwendung von DNA-Chips sind z.B. in den US-Patenten Nr. 5,578,832; 5,556,752 und 5,510,270 beschrieben.

Bei cDNA Chips sind die vollständigen Genprodukte (cDNAs) oder Subfragmente 25 (200-500bp lang) auf dem Chip gebunden. Die Methode wird z. B. in Eckmann, L. et al., J Biol Chem 2000, 275: 14084-14094 beschrieben.

Das Genprodukt mRNA kann auch durch chromogene Assays bestimmt werden.



## 5 Beschreibung der Abbildungen

Abb. 1 zeigt die Liste der Gene, die in der sekretorischen Phase bei Vorliegen einer Endometriose herunterreguliert sein können und damit für eine Diagnostik der Endometriose verwendet werden können. In Spalte 1 sind die Namen und die Datenbank-Nummer (Accession Numbers) der Gene aufgelistet, die bei der Analyse als differentiell reguliert gefunden wurden. In Spalte 2 findet sich der Vergleich von Proben aus der sekretorischen Phase (sekr. Phase), jeweils *Endometriose* versus *Normal* (keine Endometriose); *down* bezeichnet den Zustand der Herunterregulation. Die erste Zahl in Klammern gibt an, wie oft das Gen als heraufreguliert und die zweite Zahl gibt an, wie oft das Gen als herunterreguliert gefunden wurde. Für diese Analyse wurden 20 Einzelvergleiche durchgeführt. In Spalte 3 findet sich der Vergleich von Proben aus der proliferativen Phase (prol. Phase). Für diese Analyse wurden 30 Einzelvergleiche durchgeführt. Die Bezeichnung *down* beschreibt den gleichen Zustand wie in Spalte 1, *nc* bedeutet *no correlation* (keine Korrelation), d.h. man findet dieses Gen sowohl herunter- als auch heraufreguliert. Die Bedeutung der Zahlen ist analog zu Spalte 2. In der vierten Spalte findet sich der Vergleich von Proben aus der sekretorischen Phase mit Proben aus der proliferativen Phase. Hier wurde Endometrium von Frauen ohne Endometriose miteinander verglichen. Für diese Analyse wurden 25 Einzelvergleiche durchgeführt. Die Bezeichnung *up* beschreibt den Zustand der Heraufregulation. Die Bedeutung der Zahlen ist analog zu Spalte 2.

Abbildung 2 zeigt eine Liste der Polypeptide, die von den in Abbildung 1 dargestellten Genen kodiert werden und bei Vorliegen einer Endometriose vermindert exprimiert werden.

## 30 Beispiele

Die in den Beispielen verwendeten molekularbiologischen Methoden wie z.B. Isolierung von RNA, Sequenzierung von DNA, RNase Protection, Northern Blot Analyse, Polymerase-Kettenreaktion (PCR) wurden nach Standardprotokollen, wie in bekannten Lehrbüchern wie z.B. in *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*

- 5 (Sambrook, J. et al. 1989; Cold Spring Harbor Laboratory Press) beschrieben, durchgeführt. Methoden für Subtraktionsanalysen der Genexpression sind z.B. in Liang, P. und Pardee, A. B. 1995; Curr. Opin. Immunol. 7, 274-280 beschrieben.

### **Beispiel 1: Identifizierung von Endometriose-assoziierten Genen**

- 10 Gene, die mit dem Krankheitsbild der Endometriose assoziiert sind, wurden durch Vergleich von Endometriumproben folgender Patientinnengruppen identifiziert:

1. Proliferative Phase: Tage 4-14 nach der letzten Menstruation. Diese Gruppe setzte sich aus Patientinnen zusammen, bei denen aufgrund von Leiomyomen eine Hysteroskopie oder Hysterektomie durchgeführt wurde.
- 15 2. Sekretorische Phase: Tage 15-28 nach der letzten Menstruation. Diese Gruppe setzte sich aus Patientinnen zusammen, wie unter 1. beschrieben.
3. Proliferative Phase plus Endometriose: Tage 4-14 nach der letzten Menstruation. Die Patientinnen dieser Gruppe litten an Endometriose.
4. Sekretorische Phase plus Endometriose: Tage 15-28 nach der letzten
- 20 Menstruation. Die Patientinnen dieser Gruppe litten an Endometriose.

Endometrium von Frauen mit Endometriose wurde mittels einer Strichcurettage gewonnen. Das Endometrium der Vergleichsgruppe wurde von Frauen im Rahmen einer Hysteroskopie oder einer Hysterektomie, die wegen eines Leiomyoms vorgenommen wurde, gewonnen. Das Gewebe wurde nach der Entnahme in flüssigem Stickstoff tiefgefroren. Anschließend wurde Gesamt-RNA aus den Proben extrahiert. Diese RNA wurde amplifiziert, durch einen Fluoreszenzmarker markiert, und mit einem DNA-Chip (Human SL array der Firma Affymetrix, enthaltend Oligonukleotide für ca. 7000 humane Gene) hybridisiert. Nach dem Hybridisierungsverfahren wurde der DNA-Chip in einem Scanner analysiert. Die Hybridisierungsmuster aller Gensequenzen, die sich auf dem Chip befinden, wurden zwischen allen Proben verglichen. Insgesamt wurden 20 Einzelvergleiche mit Proben aus der sekretorischen Phase und 30 Einzelvergleiche mit Proben aus der proliferativen Phase durchgeführt bei denen jeweils eine Probe von einer Frau mit Endometriose stammte und eine Probe von einer Frau, die nicht an Endometriose litt.



5 Als differentiell reguliert betrachtet wurden alle diejenigen Gene, die in mindestens der Hälfte der Fälle (10 Vergleiche) um mindestens den Faktor 1.5 gegenüber der Kontrollgruppe (Proben von Frauen ohne Endometriose) herauf- oder herunterreguliert waren. Außerdem wurden 25 Einzelvergleiche von Proben aus der sekretorischen Phase mit Proben aus der proliferativen Phase durchgeführt. Hier  
10 wurde Endometrium von Frauen ohne Endometriose verglichen.

Die Ergebnisse sind in Abbildung 1 dargestellt. Die aufgelisteten Gene können als Differenzierungsmarker betrachtet werden. Ausgehend von der Betrachtung, daß die proliferative Phase, dem Namen entsprechend von proliferativen Prozessen dominiert wird, wird die sekretorische Phase eher als Differenzierungsphase  
15 angesehen. Vor diesem Hintergrund sollten Gene, die für die Differenzierung von Bedeutung sind, während dieser Phase heraufreguliert werden (vergleiche mit Abbildung 1, Spalte 4) und während der proliferativen Phase herunterreguliert oder gleichbleibend reguliert sein (vergleiche mit Abbildung 1, Spalte 3). Die Gene, die in  
20 Spalte 1 aufgelistet sind, erfüllen diese Kriterien und werden daher als Differenzierungsmarker bezeichnet. Dass diese Gene bei Frauen mit Endometriose herunterreguliert sind (Spalte 2), deutet auf eine gestörte Differenzierung in der sekretorischen Phase hin.

## **Beispiel 2: Diagnostik von Endometriose**

### **1. Probengewinnung**

Für die DNA-Chip-Analyse wird Endometriumgewebe aus Patientinnen gewonnen und Gesamt-RNA daraus isoliert. Die RNA wird dann amplifiziert und an einen Fluoreszenzmarker gekoppelt. Für den Immunttest kann Peritonealflüssigkeit, Blut, Vaginal-Sekret, Urin oder Endometriumgewebe von der Patientin gewonnen werden.

### **2. Detektion der Genprodukte**

#### **2a. mit Hilfe eines DNA-Chips**

Zuerst werden die geeigneten DNA-Sequenzen aus den Genen, die aus der in Abbildung 1 beschriebenen Gruppe ausgewählt werden, bestimmt. Geeignet sind Sequenzen, die mit den ausgewählten Gentranskripten hybridisieren können. Die

- 5 Oligonukleotide werden dann durch einen chemischen Prozess, der auf photolithographischen Verfahren basiert, auf dem Chip hergestellt. Dazu werden photolithographische Masken verwendet, die durch geeignete Computer-Algorithmen erzeugt wurden.

- Die markierte RNA wird mit dem Chip in einem Hybridisierungssofen inkubiert.
- 10 Anschliessend wird der Chip in einem Scanner analysiert, der die Hybridisierungsprofile bestimmt. Dadurch kann festgestellt werden, ob in der sekretorischen Phase eines oder mehrere der Gene der in Abbildung 1 aufgelisteten Gene runterreguliert ist, was auf eine Endometriose hinweist.

## 2b. durch Immuntest

- Für die Durchführung eines Immuntestes benötigt man spezifische Antikörper, die an die in Abbildung 2 beschriebenen Polypeptide binden. Die Antikörper können mono- oder polyklonale Antikörper sein, die gegen die aufgereinigten Proteine, Peptide, ausgewählt aus den kodierten Proteinen, oder rekombinant hergestellte Fragmente oder Gesamtprotein gerichtet sind.
- 20 Erfolgt die Analyse mittels Immunohistochemie verwendet man Endometrium, das der zu analysierenden Patientin entnommen wurde. Nach geeigneter Fixierung des Gewebes, z.B. mittels Formaldehyd und anschließender Einbettung in Paraffin kann das Gewebe für die immunhistochemische Analyse verwendet werden. Dazu werden von dem fixierten und eingebetteten Gewebe mit einem Mikrotom Schnitte geeigneter Dicke, z.B. 4  $\mu\text{m}$ , angefertigt. Der oder die spezifischen Antikörper werden dann mit den weiter vorbereiteten Gewebeschnitten (z.B. Deparaffinierung, Blocken) eine Zeitlang unter geeigneten Temperaturbedingungen, z.B. 1h bei Raumtemperatur inkubiert. Nach Waschschrten mit einer geeigneten Lösung, z.B. PBS, werden die Schnitte in einem 2. Schritt mit einem geeigneten zweiten Antikörper
- 30 inkubiert, der für die nachfolgenden Reaktionen, z.B. biotiniliert ist. Der 2. Antikörper bindet an die für die jeweilige Spezies konstante Region des 1. Antiköpers. Nach geeigneter Inkubationszeit und Waschschrten wird nun in einem dritten Schritt die Gewebeprobe z.B. mit Horse-Redish Peroxidase, gekoppelt an Streptavidin, inkubiert. Nach geeigneter Inkubationszeit und Waschschrten wird nun in einem
- 35 letzten Schritt durch Zugabe eines geeigneten Farbstoffs, z.B. DAB, von der Peroxidase eine Enzymreaktion katalysiert, die zu einer Farbreaktion dort führt, wo

17

5 der 1. Antikörper spezifisch gebunden hat. Nach Abstoppen der Enzymreaktion und Waschschrten kann der Gewebeschnitt nun getrocknet, fixiert und mit einem Deckgläschen versehen, unter dem Mikroskop analysiert werden. Um zu entscheiden, ob in der Gewebeprobe ein quantitativer oder auch qualitativer Unterschied besteht, muß eine entsprechende Kontrolle einer Probe von einer Frau  
10 ohne Endometriose als Vergleich herangezogen werden.

Erfolgt die Analyse mittels Westernblot werden die gewonnenen Gewebeproben oder Extrakte aus der Peritonealflüssigkeit, Blut, Vaginal-Sekret oder Urin mittels einer Polyacrylamid-Gelelektrophorese aufgetrennt. Nach der Auftrennung werden die in dem Gel aufgetrennten Polypeptide durch Anlegen eines elektrischen Stroms auf  
15 eine geeignete Trägermembran, z.B. Nitrozellulose, überführt. Die auf der Trägermembran fixierten Proteine werden nun in einem 1. Schritt mit dem oder den spezifischen Antikörpern inkubiert. Nach geeigneten Waschvorgängen, z.B. mit TBS/TBST, wird die Trägermembran in einem 2. Schritt mit einem 2. Antikörper inkubiert, der an die für die jeweilige Spezies konstante Region des 1. Antiköpers  
20 bindet. Der 2. Antikörper kann eine radioaktive Markierung tragen oder ein gekoppeltes Enzym, z.B. alkalische Phosphatase, die in einer nachfolgenden Farbreaktion ein farbloses Substrat in ein farbiges Substrat umwandelt. Da die Menge des an dem Antigen gebundenen des 2. Antikörpers derjenigen des Antigens proportional ist, kann daher die Menge des gemessenen Farbstoffs für eine  
25 quantitative Analyse des oder der in dem Extrakt vorhandenen Polypeptide genutzt werden.

Erfolgt die Analyse mittels eines Festphasenimmunoassays wird der oder die spezifischen Antikörper an eine polymere Trägermatrix, z.B. Polyvinylchlorid, gebunden. Anschließend inkubiert man den oder die fixierten Antikörper mit dem  
30 Extrakt, der aus z.B. aus der Peritonealflüssigkeit, Blut, Vaginal-Sekret oder Urin gewonnen wurde. Nach geeigneten Waschvorgängen wird in einem 2. Schritt ein 2. Antikörper hinzugegeben, der an einer anderen Stelle des zu detektierenden Antigens spezifisch bindet. Der 2. Antikörper trägt z.B. eine radioaktive oder Fluoreszenzmarkierung und kann daher in einem 3. Schritt hochempfindlich  
35 nachgewiesen werden. Die an dem Antigen gebundene Menge des 2. Antikörpers ist derjenigen des Antigens proportional und kann daher für eine quantitative Analyse des oder der in dem Extrakt vorhandenen Proteine genutzt werden.

12

- 5 Erfolgt die Analyse mittels ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) wird der oder die spezifischen Antikörper an eine polymere Trägermatrix, z.B. Polyvinylchlorid, gebunden. Anschließend inkubiert man den oder die fixierten Antikörper mit dem Extrakt, der aus z.B. aus der Peritonealflüssigkeit, Blut, Vaginal-Sekret oder Urin gewonnen wurde. Nach geeigneten Waschvorgängen wird in einem
- 10 2. Schritt ein 2. Antikörper hinzugegeben, der an einer anderen Stelle des zu detektierenden Antigens spezifisch bindet. Der 2. Antikörper trägt zusätzlich noch ein gekoppeltes Enzym, z.B. eine alkalische Phosphatase. Dieses Enzym katalysiert nun in einem nachfolgenden Schritt die Umwandlung eines farblosen Substrats in ein farbiges Produkt. Es kann aber auch ein nicht-fluoreszierendes Substrat in ein
- 15 fluoreszierendes Substrat umgewandelt werden. Die Menge des farbigen oder fluoreszierenden Produkts kann kolorimetrisch gemessen werden. Da die Menge des an dem Antigen gebundenen 2. Antikörpers derjenigen des Antigens proportional ist, kann daher die Menge des gemessenen Farbstoffs oder Fluoreszenzproduktes für eine quantitative Analyse des oder der in dem Extrakt vorhandenen Polypeptide
- 20 genutzt werden.

## 5 Ansprüche

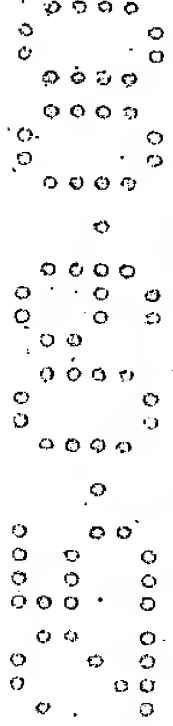
1. Methode zur in vitro Diagnose von Endometriose, dadurch gekennzeichnet, daß die Menge an Genprodukt von mindestens einem Gen aus der Gruppe bestehend aus Fibronectin, Insulin-like growth factor binding protein-2, Transmembrane receptor PTK7, Platelet-derived growth factor receptor alpha, Collagen type XVIII alpha 1, Subtilisin-like protein (PACE4), Laminin M chain (Merosin), Elastin, Collagen type IV alpha 2, p27 interferon alpha-inducible gene, Reticulocalbin, Aldehyde Dehydrogenase 6, Gravin, Nidogen und Phospholipase C Epsilon in einer Patientinnenprobe bestimmt wird und mit der Menge an diesem Genprodukt in einer Kontrollprobe verglichen wird, wobei eine geringere Menge an diesem Genprodukt auf das Vorliegen einer Endometriose hinweist.

2. Verwendung von Antikörpern gegen ein oder mehrere Proteine kodiert von Genen aus der Gruppe bestehend aus Fibronectin, Insulin-like growth factor binding protein-2, Transmembrane receptor PTK7, Platelet-derived growth factor receptor alpha, Collagen type XVIII alpha 1, Subtilisin-like protein (PACE4), Laminin M chain (Merosin), Elastin, Collagen type IV alpha 2, p27 interferon alpha-inducible gene, Reticulocalbin, Aldehyde Dehydrogenase 6, Gravin, Nidogen und Phospholipase C Epsilon oder gegen Teile des Polypeptids oder der Proteine zur Diagnose von Endometriose.

3. DNA – Chip, dadurch gekennzeichnet, daß auf dem Chip mindestens ein Oligonukleotid, das eine Teilsequenz einer DNA ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Fibronectin, Insulin-like growth factor binding protein-2, Transmembrane receptor PTK7, Platelet-derived growth factor receptor alpha, Collagen type XVIII alpha 1, Subtilisin-like protein (PACE4), Laminin M chain (Merosin), Elastin, Collagen type IV alpha 2, p27 interferon alpha-inducible gene, Reticulocalbin, Aldehyde Dehydrogenase 6, Gravin, Nidogen und Phospholipase C Epsilon oder deren komplementären Sequenz umfaßt, gebunden ist.

4. Verwendung eines DNA-Chips nach Anspruch 3 zur Diagnose von Endometriose.





Datenbank-Nr., Name	Vergleich Endometriose versus Normal (sekr. Phase)	Vergleich Endometriose versus Normal (prol. Phase)	Vergleich sekr. versus prol. Phase (Endometrium)
X02761, fibronectin (FN precursor)	down (0 up - 16 down)	down (4 up -12 down)	up (18 up - 1 down)
S37730, insulin-like growth factor binding protein-2	down (1-15)	nc (13-13)	up (17-2)
U40271, Human transmembrane receptor precursor (PTK7)	down (0-14)	nc (6-2)	up (9-1)
M21574, platelet-derived growth factor receptor alpha (PDGFRA)	down (0-13)	nc (8-10)	up (17-0)
L22548, collagen type XVIII alpha 1 (COL18A1)	down (0-13)	down (0-8)	up (17-0)
M80482, subtilisin-like protein (PACE4)	down (1-13)	down (4-13)	up (22-2)
Z26653, laminin M chain (merosin)	down (1-13)	nc (9-10)	up (17-1)
M36860, U77846, Elastin	down (0-12)	nc (0-0)	up (25-0)
X05610, type IV collagen alpha -2 chain	down (0-12)	nc (3-3)	up (11-0)
X67325, p27 interferon alpha-inducible gene	down (1-12)	nc (9-10)	up (10-2)

Abbildung 1



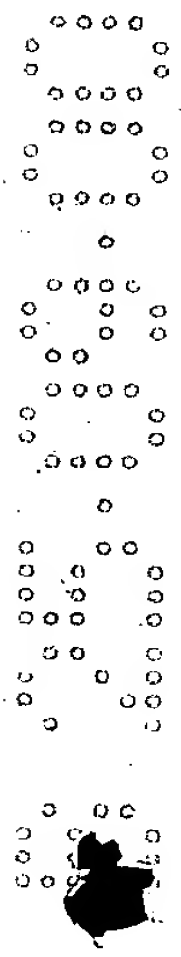
5

**Belegexemplar**  
Dart nicht geändert werden

Datenbank-Nr., Name	Vergleich Endometriose versus Normal (sekr. Phase)	Vergleich Endometriose versus Normal (prol. Phase)	Vergleich sekr. versus prol. Phase (Endometrium)
D42073, reticulocalbin	down (0-11)	nc (8-5)	up (11-2)
U07919, aldehyde dehydrogenase 6	down (1-11)	nc (13-9)	up (22-0)
U81607, gravin	down (1-11)	nc (8-7)	up (18-1)
M30269, nidogen	down (0-10)	nc (8-14)	up (15-3)
D42108, phospholipase C Epsilon	down (1-10)	nc (12-14)	up (25-0)

Abbildung 1

22



**Belegexemplar**  
Dart nicht geändert werden

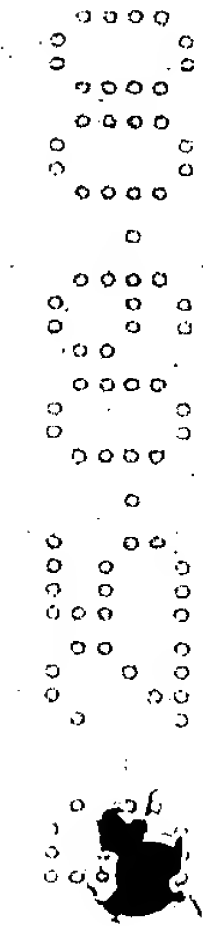
Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
1	Fibronektin	MLRGPGLL LLAQCGLTA VPSTGASKS ROAQMVPQ SPVAVSQSKP GCYDNGKHYQ INQWERTYL GNALVCTCYG GSRGFNCESK PEAEETCFDK YTGNTYRVGD TYERPKDSMI WDCTCIGAGR GRISCTIANR CHEGGQSYKI GDTWRRPHET GGYMLECVCL GNGKGWTK PIAEKCFDHA AGTSYVVGET WEKPYQGWMW VDCTCLGEGS GRITCTSRNR CNDQDTRTSY RIGDTWSKKD NRGNLLQCIC TNGRGEWKC ERHTSVQTTT SGSGPFTDVR AAVYQPQPHP QPPPYGHCVT DSGVVYSVGM QWLKTQGNKQ MLCTCLNGV SCQETAVTQT YGGNSNGEPC VLPFTYNGRT FYSCTEGRQ DGHLCWSTTS NYEQDQKYSF CTDHTVLVQT QGNSNGALC HFFFLYNNHN YTDCTSEGR DNKWCCTTQ NYDADQKFGF CPMMAHEEIC TTNEGVMYRI GDQWDKQHDM GHMRCTCVG NRGWETCIA YSQLRDQCIV DDITYNVNDT FHKRHEEGHM LNCTCFGQGR GRWKCDPVDQ CQDSETGTFY QIGDSWEKYV HGVRYQCYCY GRGIGEWHCQ PLQTYPSSSG PVEVFITETP SQPNSHPIQW NAPQSHISK YILWRPKNS VGRWKEATIP GHLSYTIKG LKPGVVYEGQ LISIQQYGHQ EVTRFDFTTT STSTPVTSTNT VTGETTFFSP LVATSESVTE ITASSEFVSW VSASDTVSGF RVEYELSEEG DEPOYLDLPS TATSVNIPDL LPGRKYIVNV YQISEDGEQS LILSTSQTTA PDAPPDPTVD QVDDTSIVVR WSRPQAPITG YRIVYSPSVE GSSTELNLE TANSVTLSDL QPGVQYNITI YAVEENQEST PVVIQQUETT TPRS DTVPS RDLOFVEVTD VKVTIMWTPP ESAVTGYRVD VIPVNLPGEH GORLPISRNT FAEVTGLSPG VTYFFKVFVAV SHGRESKPLT AQQTKLDAP TNLQFVNETD STVLVRWTPP RAQITGYRLT VGLTRRGQPR QYNVGPVSVK YPLRNLPAS EYTVSLVAIK GNQESPKATG VFTTLQPGSS IPPYNTTEVTE TTIVITWTPA PRIGFKLGVR PSQGEAPRE VTSDSGSIVV SGLTPGVEYV YTIQVLRDQ ERDAPIVNVK VTPLSPTNL HLEANPDTGV LTVSWERST PDITGYRITT TPTNGQQGNS LEEVHADQS SCTFDNLSPG LEYNVSVYTV KDDKESVPIS DTIIPAVPPP TDLRFTNIGP DTMRTWAPP PSIDLTLNLFV RYSPVKNEED VAELSISPSD NAVVLTNLLP GTEYVSVSS VYEQHESTPL RGRQKTGLDS PTGIDFSDIT ANSFTVHWIA PRATITGYRI RHHPEHFSGR PREDRVPHSR NSITLTNLTP GTEYVVSIVA LNGREESPLL IGQOSTVSDV PRDLEVVAAT PTSLLISWDA

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
		PAVTVRYRI TYGETGNSP VQFTVPGSK STATISGLKP GVDYITIVYA VTGRGDSPAS SKPISINYRT EIDKPSQMOV TDVQDNSISV KWLPS SSPVT GYRVTTTPKN GPGPTTKTA GPDQTEMTIE GLQPTVEYVV SVYAQNPSGE SQPLVQTAVT NIDRPKGLAF TDVDVDSIKI AWESPQGQVS RYRVTYSSPE DGIHELFPAP DGEEDTAELO GLRPGSEYTV SVVALHDDME SQPLIGTQST AIPAPTDLKF TQVTPTSLSA QWTPPNVQLT GYRVRVTPKE KTGPMKEINL APDSSSVVVS GLMVATKYEV SVYALKDRTL SRPAQGVVTT LENVSPRRRA RVTDATETTI TISWRTKTET ITGFQVDVAVP ANGQTPPIQRT IKPDVRSYTI TGLQPGTDYK IYLYTLNDNA RSSPVVIDAS TAIDAPSNLR FLATTPNSLL VSWQPPRARI TGYI IKYEKP GSPPREVVPR PRPGVTEATI TGLEPGTEYT IYVIALKNNQ, KSEPLIGRKK TDELPLQVTL PHPNLHGPEI LDVPSTVQKT PFVTHPGYDT GNGIQLPGTS GQQPSVGQQM IFEEHGFRT TPPTTATPIR HRPRPYPPNV GEEIQIGHIP REDVDYHLYP HGPGLNPNAS TGQEALSQTT ISWAPFQDTS EYIISCHPVG TDEEPLQFRV PGTSTSATLT GLTRGATYNI IVEALKDQOR HKVREEVVTV GNSVNEGLNQ PTDDSCFDPY TVSHYAVGDE WERMSESGFK LLCQCLGFGS GHFRCDSSRW CHDNGVNYKI GEKWDROGEN GQMSCTCLG NGKGEFKCDP HEATCYDDGK TYHVGEQWQK EYLGAICSCT CFGGQRGWRC DNCRRPGGEP SPEGTTGQSY NOYSQRYHOR TNTNVNCPIC CFMPLDVQAD REDSRE
2	Insulin-like growth binding factor protein-2	MLPRVGC PAL PLPPPPPLPL LPLLLLLLGA SGGGGGARAE VLFRCPPCTP ERLAACGPPP VAPPAAVA AGGARMPCAE LVREPGCGCC SVCARLEGEA CGVYTPRCGQ GLRCYPHPGS ELPLQALVMG EGTCEKRRDA EYGASPEQVA DNGDDHSEGG LVENHVDSTM NMLGGGSAG RKPLKSGMKE LAVFREKYTE QHRQMGKGGK HHLGLEEPKK LRPPPARTPC QQELDQVLER ISTMRLPDER GPLEHLYSLH IPNCDKHGLY NLKQCKMSLN GQGEWCVN PNTGKLIQGA PTIRGDPECH LFYNEQQEAR GVHTQRMQ

82



Belegexemplar  
Dart nicht geordnet werden

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
3	Transmembrane receptor PTK7	MGAARGSPAR PRRLLLSVL LLPLLGTTQT AIVFIKQPSS QDALQRRAL LRCEVEAPGP VHVYWLLDGA PVQDTERFA QGSSLSFAAV DPLQDSGTFQ CVARDDVTGE EARSANASFN IKWIEAGPVV LKHPASEAEI QPQTQVKLRC HIDGHPRPTY QWFRDGTPLS DGQSNHTVSS KERNLTLRPA GPEHSGLYSC CAHSAFSQAC SSQNFILSIA DESFARVLA PQDVVARYE EAMFHCQFSA QPPPSLQWLF EDETPITNRS RPPHLRRATV FANGSLLLTQ VRPRNAGIYR CIGQGQRGPP IILEATLHLA EIEDMPLFEP RVFTAGSEER VTCLPPKGLP EPSVWWEHAG VRLPTHGRVY QKGHELVLAN IAESDAGVYT CHAANLAGQR RQDVNITVAT VPSWLKKPQD SOLEEGKPGY LDCLTQATPK PTVVWYRNQM LISEDSRFEV FKNGTLRINS VEVYDGTWYR CMSSTPAGSI EAQAVLQVLE KLKFTPPPQP QQCMGFDKEA TVPCSATGRE KPTIKWERAD GSSLPEWVTD NAGTLHFARV TRDDAGNYTC IASNGPQGI RAHVQLTVAV FITFKVEPER TTVYQGHYAL LQCEAQGDPK PLIQWKGKDR ILDPTKLGPR MHIFQNGSLV IHDVAPEDSG RYTCIAGNSC NIKHTEAPLY VVDKPVPEES EPGSPPPYK MIQTIGLSVG AAVAYIIAVL GLMFYCKKRC KAKRLQKQPE GEEPEMECLN GGPLONGQPS AEIQEEVALT SLGSGPAATN KRHSTSDKMV FPRSSLOPIT TLGKSEFGEV FLAKAQGLEE GVAETLVLVK SLQSKDEQQQ LDFRRELEMF GKLNHANVVR LLGLCREAEP HYMVLEYVDL EDLKQFLRIS KSKDEKLKSQ PLSTKQKVAL CTQVALGMEH LSNNRFVHKD LAARNCLVSA QRQVKVSALG LSKDVYNSEY YHFRQAWVAL RWMSPEAILE GDFSTKSDVW ASGVLWWEVF THGEMPHGGQ ADDEVLDLQ AGKARLPQPE GCPSKLYRLM QRCWALSPKD RPSFSEIASA LGDSTVDSKP
4	Platelet-derived growth factor receptor alpha	MGTSHPAFLV LGCLLTGLSL ILCQLSLPSI LPNENEKVVO LNSSFSLRCF GESEVSWQYP MSEEESDVE IRNEENNSGL FVTVLEVSSA SAAHTGLYTC YYNHTQTEEN ELEGRHIYIY VPDPDVAFVP LGMTDYLIV EDDDSAIIPC RTTDPETPVT LHNSEGVVPA SYDSRQGFNG TFTVGPYICE ATVKGKKFQT IPFNVALKA

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
		TSELDLEMEA LKTVYKSET IVTCAVFN EVVDLQWTYP GEVKGKGITM LEEIKVPSIK LVYTLTVPEA TVKDSGDYEC AARQATREVK EMKKVTISVH EKGFEIKPT FSQLEAVNLH EVKHFVVEVR AYPPPRISWL KNNLTLIENL TEITTDVEKI QEIRYRSKLK LIRAKEEDSG HYTIVAQNEH AVKSYTFELL TQVPSSILDL VDDHHGSTGG QTVRCTAEGT PLPDIEWMIC KDIKKCNNET SWTILANNVS NIITEIHSRD RSTVEGRVTF AKVEETIAVR CLAKNLLGAE NRELKLVAPT LRSELTVAAB VLVLVIVII SLIVLVVIWK QKPRYEIRWR VIESISPDGH EYIYVDPMQL PYDSRWEFFR DGLVLRVLG SGAFGKVVEG TAYGLSRSQP VMKVAVKMLK PTARSSEKQA LMSELKIMTH LGPHLNIVNL LGACTKSGPI YIITEYCFYG DLVNYLHKNR DSFLSHHPEK PKKELDIFGL NPADESTRSY VILSFENNGD YMDMKQADTT QYVPMLEKE VSKYSDIORS LYDRPASYYK KSMLDSEVKN LLSDDNSEGL TLDLLSFTY QVARGMEFLA SKNCVHRDLA ARNVLLAQK IVKICDFGLA RDMHDSNYV SKGSTFLPVK WMAPESIFDN LYTTLSDVWS YGILLWEIFS LGGTPYPGMM VDSSTFYNNKIK SGYRMAKPDH ATSEVYEIMV KCWNSEPEKR PSFYHLSEIV ENLLPGQYKK SYEKIHLDFL KSDHPAARMVSDNAYIG VTYKNEEDKL KDWEGGLDEQ RLSADSGYII PLPDIDPVPE EEDLGKRNH SSQTSEESAI ETGSSSSTFI KREDETIEDI DMMDDIGIDS SDLVEDSFL
5	Collagen XVIII alpha 1 type	GEVGADGIPG FPGLPGREGI AGPQPKGDR GSRGKGDGP KDGLGQGLP GPRGPPGPV YVSEQDGSVL SVPGPEGRRG FAGPPGPAGP KGNLGSKGEL GSPGPKGEG EPGSIFSPDG GALGPAQKGA KGEPPGFRGPP GLYGRPGYKG EIGFPGRPGR PGMNGLKGEK GEPGDASLGF GMRGMPGPPG PPGPPGPPGT PVYDSNVFAE SSRPGPPGLP GNQPPPGPKG PKGEVGPVPPG PQQFPDFLQ KEAEMKGEK DRGDAGQKE RGEPPGGGFF GSSLPGAPGA PGPRGYPGIP GPKGESIRGQ PGPPGPQGP GIGYEGRQGP PGPPGPPGP SFPGPHRQTI SVPGPPGPPG PPGPPGTGMA SSGQVRLWAT RQAMLGQVHE VPEGWLIFVA EQEELYVRVQ NGERKVQLEA RTPLPRGTDN EVAALQPPV QLHDSNPYR REHPHTARP WRADDILASP PGLPEQPYP GGPHHSSVYH CGPARPTSPP AHSHRDFQPV LHLVALNSPL SSGMRGIRGA DFQCFQARA VGLAGTFRAF LSSRLQDLYS

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
		IVRRADRAAV PIVNLKDELL FPSWEALFSG SEGPLKPGAR IFSFDGKDV L RHPTWPQKSV WHGSDPNRR LTESYCETWR TEAPSATGQA SLLGGRLLG QSAASCHHAY IVLCIENSFM TASK
6	Subtilisin-like protein (PACE4	MPPRAPAPG PRPPPRAAAA TDTAAGAGGA GGAGGAGGPG FRPLAPRPWR WLLLLALPAA CSAPPPRPVY TNHWAVQVLG GPAEADRVAA AHGYINLGQI GNLEDYHYFY HSKTFKRSTL SSRGPHTFLR MDPQVKWLQQ QEVKRRVKRQ VRSDPQALYF NDPIWSNMWY LHCGDKNSRC RSEMNVQA AW KRGYTGKNVV VTILDDGIER NHPDLAPNYD SYASYDVNGN DYDPSPRYDA SNENKHGTRC AGEVAASANN SYCIVGIAYN AKIGGIRMLD GDVTDVVEAK SLGIRPNYID IYSASWGPDD DGKTVDPGR LAKQAFEYGI KKGRQGLGSI FVWASGNGGR EGDYCSCDGY TNSIYTISVS SATENGYKWP YLEECAS TLA TTYSSGAFYE RKI VTTDLRQ RCTDGHGTGS VSAPMVAGII ALALEANSQ L TW RDVQHLLV KTSRPAHLKA SDWKVNGAGH KVSHFYGFGL VDAEALVVEA KKWTA VPSQH MCVAASDKRP RSIPLVQVLR TTALTSACAE HSDQRVVYLE HVVVRTSISH PRRGDLQIYL VSPSGTKSQL LAKRLLDLSN EGFTNWEFMT VHCWGEKAE G QWTL EIQDLP SQVRNPEKQG KLKWSLILY GTAEHPYHTF SAHQSRSRML ELSAPELEPP KAALSPSQVE VP EDEEDYTA QSTPGSANIL QTSVCHPECG DKGCDGPNAD QCLNCVHFS L GSVKTSRKCV SVCPLGYFGD TAARRCRRCH KGCETCSSRA ATQCLSCRRG FYHHQEMNTC VTLC PAFYA DESQKNCLKC HPCKKCVDE PEKCTVCKEG FSLARGSCIP DCEPGTYFDS ELIRCGECHH TCGTCVGPGR EECIHCAKNF HFHDWKCVPA CGEGFYPEEM PGLPHKVCRR CDENCLSCAG SSRNC SRCKT GFTQLGTSCI TNHTCSNADE TFCMVKS NR LCERKLFIQF CCRTCLLAG
7	Laminin M chain (Merosin	MPGAAGVLLL LLLSGGLGV QAORPQQORQ SOAHQQRGLF PAVNLASNA LITTNATCGE KGPEMYCKLV EHVPGQPV RN PQCRICNONS SNPNQRHPIT NAIDGKNTW QSPSIKNGIE YHVVTITL DL QQVFQIAYVI VKAANSRPPG NWILERSLDD VEYKPWQYHA VTDTECLTY NIYPRTGPPS YAKDDEVICT SFYSKIHPL E NGEIHISLIN GRPSADDPSP ELLEFTSARY IRLRFQIRT LNADLMMFAH KDPREIDPIV TRRYYSVKD ISVGMCI CY GHARACPLDP ATNKSRCCE HNTCGDSCDQ CCPGFHQKPW RAGTFLTKTE CEACNCHGKA



Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
		EECYDENVA RRNLSLNIRG KYIGGVVCIN CTQNTAGINC ETCTDGFERP KGVSPNYPRP CQPCDPIG SLNEVCVKDE KHARRGLAPG SCHCKTGFGG VSCDRACAGY TGYPDCACN CSGLGSKNED PCFGPCICKE NVEGGDCSRC KSGFFNLQED NWKGCDECFC SGVSNRCQSS YWTYKIQDM SGWYLTDLPG RIRVAPQDD LDSPQQISIS NAEARQALPH SYWASAPAY LGNKLPAVGG QLTFTISYDL EEEEEETERV LQLMILLEGN DLSISTAQDE VYLHPSEEHT NVLLLKEESF TIHGTHFPVR RKEFMTVLAN LKRVLQITY SFGMDAIFRL SSVNLESAVS YPTDGSIAAA VEVCQCPPGY TGSSCESCW P RHRRVNGTIF GGICEPCQCF GHAESEDDVT GECLNCKDHT GGPYCDKCLP GFYGEPTKGT SEDCQPCACP LNIPSNFSP TCHLDRSLGL ICDGCPVGYT GPRCERCAEG YFGQPSVPGG SCQPCQCNDN LDFSIPGSCD SLGSGCLICK PGTGTRYCEL CADGYFGDAV DAKNCQPCRC NAGGSFSEVC HSQTGQCECR ANVQQRCDK CKAGTFGLQS ARGCVPCNCN SFGSKSFDCE ESGQCWCQPG VTGKKCDRCA HGYFNFQEGG CTACECSHLG NNCDPKTGRC ICPNTIGEK CSKCAPNTWG HSITTGCKAC NCSTVGSLEDF QCNVNTGQCN CHPKFSGAKC TECSRGHWNY PRCNLDCFL PGTDATTCDS ETKKCSCSDQ TGQCTCKVNV EGIHCDRCRP GKFGLDKNP LGCSSCYCFG TTTQCSEAKG LIRTWVTLKA EQTILPLVDE ALQHTTTKGI VFQHPFIVAH MDLMREDLHL EPFYWKLPQ FEGKKLMAYG GKLKYAIYFE AREETGFSTY NPQVIIRGGT PTHARIIVRH MAAPLIGQLT RHEIEMTEKE WKYYGDDPRV HRTVTREDFL DILYDIHYIL IKATYGNFMR QSRISEISME VAEQGRGTTM TPPADLIEK DCPLGYSGLS CEACLPGFYR LRSQGGGRTGPTLTGTCVPC QCNHSHSLCD PETSICQNCQ HHTAGDFCER CALGYYGIVK GLPNDCCQCA CPLISSNNF SPSCVAEGLD DYRCTACPRG YEGQYCERCA PGYTGSPGNP GGSCQCECD PYGSLPVPCD PVTGFCTCRP GATGRKCDGC KWHHAREGWE CVFCGDECTG LLLGDLARLE QMVSINLTG PLPAPYKMLY GLENMTQELK HLLSPQRAPE RLIQLAEGNL NTLVTEMNEL LTRATKVTAD GEQTGQDAER TNTRAKSLGE FIKELARDAE AVNEKAIKLN ETLGTRDEAF ERNLEGLQKE IDQMIKELRR KNLETOKEIA EDELVAEAL LKKVKKLFGE SRGENEEMEK DLREKLADYK NKVDDAWDLL REATDKIREA NRLFAVNQKN MTALEKKKEA VESGKRQIEN TLKEGNDILD EANRLADEIN SIIDYVEDIQ TKLPPMSEEL NDKIDDLSEQ IKDRKLAEKV

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
		SQAESHAACL NDSSAVLDGI LDEAKNISFN ATAAFKAYSN IKDYIDEAEK VAKEAKDLAH EATKLATGPR GLLKEDAKGC LOKSFRILNE AKKLANDVKE NEDHLNGLKT RIENADARNG DLLRTLNDTL GKLSAIPNDT AAKLQAVKDK ARQANDTAKD VLAQITELHQ NLDGLKKNYN KLADSVAKTN AVVKDPSKNK IADADATVK NLEQEAADRLI DKLKPIKELE DNLKKNISEI KELINQARKQ ANSIKVSUSS GGDCIRTYKP EIKKGSYNNI VVNVKTAVAD NLLFYLGS AK FIDFLAIEMR KGVVSFLWDV GSGVGRVEYP DLTIDDSYWY RIVASRTGRN GTISVRALDG PKASIVPSTH HSTSPPGYTI LDVDANAMLF VGGLTGKLLK ADAVRVITFT GCMGETYFDN KPIGLWNFRE KEGDCKGCTV SPQVEDSEGT ATRDLRDFMS VELTDGHIKV SYDLGSGMAS VVSNQNHNDG KWKSFLLSRI QKQANISIVD IDTNQEENIA TSSSGNNFGL DLKADDDKIYF GGLPTLRNLS MKARPEVNLK KYSGLCKDIE ISRTPYNILS SPDYVGVTKG CSLENNVTVS FPKPGFVELS PVPIDVGTEI NLSFSTKNES GIILLGSGGT PAPRRKRRO TGQAYYVILL NRGRLVHLS TGARTMRKIV IRPEPNLFHD GREHSHVHER TRGIFTVQVD ENRRYMQNLT VEQPIEVKKL FVGAPPEFQ PSPLRNIPPF EGCINLNLVIN SVPMDFARPV SFKNADIGRC AHQKLREDED GAAPAEIVIQ PEPVPTPAFP TPTPVLTHGP CAAESEPALI IGSKQFGLSR NSHIAIAFDD TKVKNRLTIE LEVRTEAESG LLFYMAAINH ADFATVQLRN GLPYFSYDLG SGDTHTMIPT KINDGQWHKI KIMRSKQEGI LYVDGASNRT ISPKKADILD VVGMLYVGGI PINYTTRRIG PVTYSIDGCV RNLHMAEAPA DLEQPTSSFH VGTCFANAQR GTYFDGTGFA KAVGGFKVGL DLLVEFEFAT TTTTGVLLGI SSQKMDGMI EMIDEKLMFH VDNAGRFTA VYDAGVPGHL CDGQWHKVTA NKIKHRIELT VDGNOQVEAQS PNPASTSADT NDPVFVGGFP DDLKQFGLTT SIPFRGCIRS LKLTGTASH WRLILPRPWN
8	Elastin	MAGLTAAAPR PGVLLLLLSI LHPSRPGGVP GAIPGGVPGG VFYPGAGLGA LGGALGPGG KPLKPVPGGL AGAGLGAGLG APPAVTFPGA LVPGGVADAA AAYKAAKAGA GLGGVPGVGG LGVSAGAVVP QPGAGVKPGK VPGVGLPGVY PGGVLPGARF PGVGLPGVP TGAGVKPKAP GVGGAFAPIP GVGPFPGPQP GVPLGYPIKA PKLPGGYGLP YTTGKLPGY GPGGVAGAAG KAGYPTGTGV GPQAAAAAAA KAAKFGAGA AGVLPVGGA

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
9	Alpha-2 type IV collagen	<p>GVPGVPGAIP GIGGIAGVGT PAAAAA AAAA AKAAYGAAA GLVPGPGFG PGVVGVPGAG VPGVGVPGAG IPVVPAGIP GAAVPGVWSP EAAAKAAAKA AKYGARPGVG VGGIPTYGVG AGGPPGFGVG VGGIPGVAGV PSVGGVPGVG GVPVGVISPE AQAAAAAKAA KYGVGTPAAA AAKAAAKAAQ FALLNLAGLV PGVGVAPGVG VAPGVGVAPG VGLAPGVGA PGVGVAPGVG VAPGIGPGGV AAAAKSAKV AAKAQLRAAA GLGAGIPGLG VGVGVPGLGV GAGVPGLGVG AGVPFGGAVP GALAAAKAAK YGAAVPGVLG GLGALGGVGI PGGVVGAGPA AAAAAAKAAA KAAQFGLVGA AGLGGLGVGG LGVPVGGLG GIPPAATAKA AKYGAAGLGG VLGAGQFPL GGVAARPGFG LSPIFPGGAC LGKACGRKRK</p> <p>MGRDQRAVAG PALRRWLLLG TTVTGFLAQS VLAGVKKFDV PCGGRDCSGG CQCYPEKGR GQPGVGPQG YNGPPGLQGF PGLQGRKGDK GERGAPGVTG PKGDVGARGV SGFPAGDGIP GHFGQGGPRG RPYDGCNGT QGDSGPQGGP GSEFTGPPG PQPKGQKGE PYALPKEERD RYRGEPEPG LVGFQGGPRG PGHVGMGPV GAPRPGPPG PPGPKGQQGN RGLGFYGVKG EKGDVGPQP NGIPSDLHP IIAPTGVTFH PDQYKGEKGS EGEPGIRGIS LKGEEGIMGF PGLRGYPGLS GEKSGPGKG SRGLDGYQGP DGRGPKGEA GDPGPPGLPA YSPHPSLAKG ARGDPGFPGA QGEPGSGEP GDPGLPGPPG LSIGDGDQRR GLPGEMGPKG FIGDPGIPAL YGGPPGPDGK RGPFGPPGLP GPPGPDGFLF GLKGAAGRAG FPGLPGSPGA RGPKGWKGDA GECRCTEGDE AIKGLPGLPG PKGFAGINGE PGRKGDKGDP GQHGLPGFPG LKGVPGNIGA PGPKGAKGDS RTITTKGERG QPGVPGVPGM KGDDGSPGRD GLDGFPGPLG PPGDGKIGPP GDPGYPGIPG TKGTPGEMGP PGLGLPGLKG QRGFPGDAGL PGPPGFLGPP GPAGTPGQID CDTDVKRAVG GDRQEAIQPG CIAGPKGLPG LPGPPGPTGA KGLRGIPGFA GADGGPGPRG LPGDAGREGF PGPPGFIGPR GSKGAVGLPG PDGSPGPIGL PGPDGPPGER GLPGEVLGAQ PGPRGDAGVP GQGLKGLPG DRGPPGFRGS QGMPGMPGLK QPGLPGPSG QPGLYPPGL HGFPAGPQE GPLGLPGIPG REGLPGDRGD PGDTGAPGPV GMKGLSGDRG DAGFTGEQGH PGSPGFKGID GMPGTPGLKG DRGSPGMDGF QGMPGLKGRP GFPGSKGEAG FFGIPGLKGL AGEFGFKGR GDPGPPGPPP</p>

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
		VILPGMKDIK GEKDEGPMG LKGYLGAKGI QMPGIPGLS GIPGLGRPG HIKGVKGDIG VPGIPGLPGF PGVAGPPGIT GFPFIGSRG DKGAPGRAGL YGEIGATGDF GDIGDTINLP GRPGLKGERG TTGIPGLKGF FGEKGTEGDI GFPGITGTG VQPPGLKGQ TGFPGLTGPP GSQELGRIG LPGKGDDGW PGAPGLPGFP GLRGIRGLHG LPGTKGFPGS PGSDIHGDPG FPGPPGERD PGEANTLPGP VGVPGQKGDQ GAPGERGPPG SPGLQGFPPI TPPSNISGAP GDKGAPGIFG LKGYRGPPGP PGSAALPGSK GDTGNPGAPG TPGTKGWAGD SGPQGRPGVF GLPGEKGPRG EQGEMGNTGP TGAUGDRGPK GPKGDPGFPG APGTVGAPGI AGIPQKIAIQ PGTVGPQGRR GPPGAPGEIG PQGPPGEPGF RGAPGKAGPQ GRGGVSAVPG FRGDEGPICH QGPIGQEGAP GRPGSPGLPG MPGRSVSIGY LLVKHSQTDQ EPMCPVGMNK LMSGYSLLYF EGQEKAHNQD LGLAGSCLAR FSTMPFLYCN PGDVCCYYASR NDKSYWLSTT APLPMPVAE DEIKPYISRC SVCEAPAIAI AVHSQDVSI HCPAGWRSLW IGYSFLMHTA AGDEGGQSL VSPGSCLEDF RATPFIECNG GRGTCHYYAN KYFWLTTIP EQSFQGPSA DTLKAGLIRT HISRCQVCMK NL
10	p27	MEASALTSSA VTSVAKVVRV ASGSVVLLPL ARIATVVIGG VVMAAAVPMV LSAMGFTAAG IASSSIAAKM MSAAAANGG GVASGSLVGT LQSLGATGLS GLTKFILGSI GSAIAAVIAR FY
11	Reticulocalbin	MARGGRGRRLL GLALGLLLAL VLAPRVLRK PTVRKERVVR PDSELGERPP EDNQSFQYDH EAFLGKEDSK TFDQLTPDES KERLGKIVDR IDNDGDGFVT TEELKTWIKR VQKRYIFDNV AKVWKDYDRD KDDKISWEEY KQATYGYLNG NPAEFHDSSD HHTFKKMLPR DERRFKAADL NGDLTATREE FTAFLHPEEF EHMKEIVVLE TLEDIDKNGD GFVDQDEYIA DMFSHEENG PPDWVLSERE QNEFRDLNK DGKLDKDEIR HWILPQDYDH AQAEARHLVY ESDKNKDEKL TKEEILENWN MFVGSQATNY GEDLTKNHDE L
12	Aldehyde dehydrogenase 6	MATANGAVEN GOPDGKPPAL PRPIRNLEVK FTKIFINNEW HESKSGKKFA TCNPSTREQI CEVEEGDKPD VDKAVEAAQV AFQRGSPWRR LDALSRGRLH QHQLADLVERD RATLAALETM DTGKPFLLHAF FIDLEGCIPT

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
		LRYFAGWADK IQGKTIPTDD NVVCFTRHEP IGVCGAITPW NFPLLMLVWK LAPALCCGNT MVLKPAEQTP LTALYLGSLI KEAGFPFPGVV NIVPGFGPTV GAAISSHPQI NKIAFTGSTE VGKLVKEAAS RSNLKRVTLE LGGKNPCIVC ADADLDLAVE CAHQGVFFNQ GQCCTAASRV FVEEQVYSEF VRRSVEYAKK RPYGDPFDDVK TEQGPQIDQK QFDKILELIE SGKKEGAKLE CGGSAMEDKG LFIKPTVFSE VTDNMRIAKE EIFGPVQPIL KFKSIEEVIK RANSTDYGLT AAVFTKNLDK ALKLASALES GTVWINCYNA LYAQAPFGGF KMSGNGRELG EYALAEYTEV KTVTIKLGDK NP
13	Gravin	MGAGSSTEQR SPEQPEGSS TPAEPEPSGG GPSAEAAPDT TADPAIAASD PATKLLQKNG QLSTINGVAE QDELSLQEGD LNGQKGALNG QGALNSQEEE EVIVTEVGQR DSEDVSRDS DKEMATKSAV VHDITDDGQE ENRNIEQIPS SESNLEELTQ PTESQANDIG FKKVFKFVGF KFTVKKDKTE KPDTVQLLTV KKDEGEAGAAG AGDHQDPSLG AGEAAKSESE PKQSTEKPEE TLKREQSHAE ISPPAESGQA VEECKEEGEE KOEKEPSKSA ESPTSPVTSE TGSTFKKFFFT QGWAGWRKKT SFRPKPEDEV EASEKKKEQE PEKVDTEEDG KAEVASEKLT ASEQAHPOEP AESAHEPRLS AEYEKVELPS EEQVSGSQGP SEEKPAPLAT EVFDEKIEVH QEEVVAEVHV STVEERTEEQ KTEVEETAGS VPAEELVGMD AEPQEAEPK ELVKLLKETCV SGEDPTQCAD LSPDEKVLKSK PPEGVVSEVE MLSSQERMKV QGSPLKKLFT STGLKKLSGK KQKGRGGGD EESGEHTQVP ADSPDSQEEQ KGESSASSPE EPEEITCLEK GLAEVQQDGE AEEGATSDGE KKREGVTPWA SFKKMVTPEK RVRPSESDK EDELDKVSA TLSSTESTAS EMQEMKGSV EEPKPEEPKR KVDTSVSWEA LICVGSSKKR ARRRSSSDEE GGPKAMGGDH QKADEAGKDK ETGTDGILAG SQEHDPGQS SSPEQAGSPT EGEVSTWES FKRLVTPRKK SKSKLEEKSE DSIAGSGVEH STPDTEPGKE ESWVSICKFI PGRRKRPDG KQEQAPVEDA GPTGANEDDS DVPVAVPLSE YDAVEREKME AQQAQKGAEQ PEQKAATEVS KELSEQVHM MAAAVADGTR AATIEERSP SWISASVTEP LEQVEAEAL LTEEVLREV IAEEEEPTVT EPLPENREAR GDTVVSEAEEL TPEAVTAAET AGPLGSEEGT EASAAEETTE MVSAVSQQLTD SPDTTEEATP VQVEGVGVPD IEEQERRTQE VLQAVAEKVK

11

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
		<p>EESQLPGTGG PEDVLQPVQR AEAERPEEQ AASGLKKETD VVLKVDAQEA KTEPFTQGV VGQTTPESEF</p> <p>KAPQVTSIE SSELVTTTCCA ETLAGVKSQE MVMEQAIPPD SVETPTDSET DGSTPVADFD APGTTQKDEI</p> <p>VEIHEENEVA SGTQSGGTEA EAVPAQKERP PAPSSFVFQE ETKEQSKMED TLEHTDKEVS VETVSILSKT</p> <p>EGTQEADQYA DEKTKDVPPF EGLEGSIDTG ITVSREKVT E VALKGEETEE AECKKDDALE LQSHAKSPPS</p> <p>PVEREMVVQV EREKTEAEPT HVNEEKLEHE TAVTVSEEV KOLLQTVNVP IIDGAKEVSS LEGSPPPCLG</p> <p>QEEAVCTKI QVSSEASFTL TAAAEKVL GETANILETG ETLEPAGAH VLEEKSSSEKN EDFAAHPGED</p> <p>AVPTGPDCCA KSTPVIVSAT TKKGLSSDLE GEKTTSLKWK SDEVDEQVAC QEVKVSVAIE DLEPENGILE</p> <p>LETSSKLQV NIIQTAVDQF VRTEETATEM LTSELQTAH VIKADSQDAG QETEKEGEEP QASAQDETPI</p> <p>TSAKEESEST AVGOAHSDIS KDMSEASEKT MTVEVEGSTV NDQQLEEVVL PSEEEGGGAG TKSVPEDDGH</p> <p>ALLAERIEKS LVEPKEDEKG DDVDDPENQN SALADTDASG GLTKESPDTN GPKQKEKEDA QEVELQEGKV</p> <p>HSESDKAITP QAQEELQKQE RESAKSELTE S</p>
14	Nidogen	<p>MLASSRIRA AWTRALLPL LLAGPVGCLS RQELFPFGPG QGDLELEDGD DFVSPALELS GALRFYDRSD</p> <p>IDAVYVTNG IATSEPPAK ESHPGLPPT FGAVAPFLAD LDTTDGLGV YREDLSPSI TQRAAECVHR</p> <p>GFPEISFQPS SAVVVTWESV APYQGPSRDP DQKGRNTFQ AVLASSDSSS YAIFLYPEDG LQFHTTFSKK</p> <p>ENNOVPAVVA FSQGSVGFLW KSNAYNIFA NDRESIENLA KSSNSGQGV WVFEIGSPAT TNGVVPADVI</p> <p>LGTEDEAEYD DEDEDYDLAT TRLGLEDVGT TPFSYKALRR GGADTYSVPS VLSRRRAATE RPLGPPPTERT</p> <p>RSFQLAVETF HQHPQVIDV DEVEETGVVF SYNTDSRQTC ANNRHQCSVH AECDYATGF CCSCVAGYTG</p> <p>NGRQCVAEGS QRVNGKVKG RIFVGSSQVP IVFENTDLHS YVVMNHGRSY TAISTIPETV GYSLPLAPV</p> <p>GGIIGWMFAV EQDGFKNQFS ITGGEFTRQA EVTFVGHPCN LVIKORFSGI DEHGLTIDT ELEGRVPQIP</p>

Belegexemplum  
Dart nicht geändert werden



Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
		FGSSVHIEPY TELYHYSTSV ITSSSTREYT VTEPERDGAS PSRIYTYQWR QTITFQECVH DDSRPAIPST QQLSVDSV FV LYNQEEKILR YAFNSISGPV REGSPDALQN PCYIGTHGCD TNAACRPGPR TQFTCECSIG FRGDGRTCYD IDECSEQPSV CGSHTICNNH PGTFRCCEVE GYQFSDEGTC VAVVDQRPIN YCETGLHNCD IPQRAQCIYT GGSSYTCCL PGFSGDQAC QDVDECQPSR CHPDFACYNT PGSFTCQCKP GYQGDGFRCV PGEVEKTRCQ HEREHILGAA GATDPQRPPI PGLFVPECDA HGHYAPTQCH GSTGYCWCVD RDGREVEGTR TRPGMTPPCL STVAPPIHQG PAVPTAVIPL PPGTHLLFAQ TGKIERLPLE GNTMRKTEAK AFLHVPAKVI IGLAFDCVDK MVYWTDITEP SIGRASLHGG EPTTIIRQDL GSPEGIAVDH LGRNIFWTDS NLDRIEVAKL DGTQRRVLFE TDLVNPRGIV TDSVRGNLYW TDWNRDNPKI ETSYMDGTNR RILVQDDLGL PNGLHFDAPS SOLCWVDAGT NRAECLNPSQ PSRRKALEGL QYPFAVTSYG KNLYFTDWKM NSVVALDLAI SKETDAFQPH KQTRLYGITT ALSQCPQGHN YCSVNNGGCT HLCLATPGSR TCRCPDNTLG VDCIERK
15	Phospholipase Epsilon	MPSEKKISSA NDCISFMQAG CELKKVRPNS RIYNRFFFTLD TDLOALRWEF SKKDLEKAKL DISAIKEIRL GKNTETFTNN GLADQICEDC AFSILHGENY ESLDLVANSA DVANIWVSL RYLVSRSKQP LDFMEGNQNT PRFMWLKTVF EAADV DNGI MLEDTSVELI KQLNPTLKEA KIRLKFEIQ KSKEKLTRV TEEEFCEAFC ELCTRPEVYF LLVQISKKE YLDANDLMLF LEAEQGVTHI TEDICLDIIR RYELSEEGRQ KGFLAIDGFT QYLLSSECDI FDPEQKKVAQ DMTQPLSHYY INASHNTYLI EDQFRGPADI NGYIRALKMG CRSVELDVSD GSDNEPILCN RNNMTTHVSF RSVIEVINKF AFVASEYPLI LCLGNHCSLP QQKVMAQQMK KVFGNKLYTE APLPSESYP SPEKLKRMII VKGKKLPSPD DVLEGEVTDE DEEAQMSRRM SVDYNGEQKQ IRLCRELSDL VSICKSVQYR DFELSMKSQN YWEMCSFSET EASRIANEYP EDFVYNKKF LSRIYPSAMR IDSSNLNPQD FWNCGCQIVA MNFQTPGPM DLHTGWFLQN GGCGYVLRPS IMRDEVSYFS ANTKGILPGV SPLALHIKII SGQFFPKPG ACAKGDVIDP YVCIEIHGIP ADCSEQRTKT VQONSNDNPIF DETFEFQVNL PELAMIRFVV LDDDYIGDEF IGQYTIPFEC LQGYRHHVPL RSFVG DIMEH VTLFVHIAIT NRSGGGKAQK RSLSVRMGKK

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
		VREYTMRLNI GLKTIDDDIFK IAVHPLREAI DMRENMQNAI VSIKELCGLP PIASLKQCCLL TLSSRLITSD NTPSVSLVMK DSFPYLEPLG AIPDVQKKML TAYDLMIQES RFLIEMADTV QEKIVQCQKA GMEFHEELHN LGAKEGLKGR KLNKATESFA WNITVLKGQG DLLKNAKNEA IENMKQIQLA CLSCGLSKAP SSSAEAKSKR SLEAIEEKES SEENGKL

## 5 Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft eine Methode zur Diagnose von Endometriose wobei die Menge an Genprodukt von mindestens einem Gen aus der Gruppe bestehend aus Fibronectin, Insulin-like growth factor binding protein-2, Transmembrane receptor PTK7, Platelet-derived growth factor receptor alpha, Collagen type XVIII alpha 1, Subtilisin-like protein (PACE4), Laminin M chain (Merosin), Elastin, Collagen type IV alpha 2, p27 interferon alpha-inducible gene, Reticulocalbin, Aldehyde Dehydrogenase 6, Gravin, Nidogen und Phospholipase C Epsilon in einer Patientinnenprobe bestimmt wird.